

AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FÓSFORO AISLADOS DEL ANP CERRO DEL CUBILETE, GUANAJUATO

Luna Calzada Ramón (1), Alejo Iturvide Francisco (2), Márquez Lucio Maria Azucena (3)

1 [Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato] [ramón.luna.931012@gmail.com]

2 [Licenciatura en Biología, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato] [fralejo@itesi.edu.mx]

3 [Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato] [mamarquez@itesi.edu.mx]

Resumen

Nutricionalmente, el fósforo es el segundo elemento más importante para el crecimiento y desarrollo vegetal, después del nitrógeno. En este trabajo se aislaron y caracterizaron macroscópica y microscópicamente cepas bacterianas a partir de muestras de suelo del cerro del cubilete, capaces de solubilizar el fósforo entre las cuales resultaron ser *Pseudomonas* spp, *Proteus* spp, *Arizona* spp y tres hongos los cuales se tomaron como H1, H2, y H3. Se realizaron las cinéticas de crecimiento microbiano, así como observar la capacidad de solubilización de fósforo realizando confrontaciones entre los microorganismos. Los resultados mostraron varias confrontaciones exitosas, en la cinética de hongos se observó que dos de estos cuentan con dos fases exponenciales y estacionarias a partir del tercer día.

Abstract

Nutritionally, phosphorus is the most important element for growth and development plant, after nitrogen. In this work they were isolated and characterized macroscopic and microscopic bacterial strains from samples of soil of Cerro of Cubilete, able to solubilize phosphorus between which proved to be *Pseudomonas* spp, *Proteus* spp, *Arizona* spp and three fungi which were taken as H1, H2, and H3. Microbial growth kinetics was performed and observe solubilization capacity of phosphorus making confrontations between microorganisms. The results showed several successful confrontations, the kinetics of fungi was observed that two of these have two exponential and stationary phases from the third day.

INTRODUCCIÓN

El crecimiento y desarrollo de los seres vivos depende de la incorporación de varios elementos a sus procesos biológicos y estructuras. El fósforo es el segundo macronutriente más importante en el desarrollo y crecimiento de plantas y microorganismos, después de nitrógeno [1], además de ser un nutriente esencial para la vida vegetal, animal y de microorganismos, su importancia radica en la formación de moléculas orgánicas (ácidos nucleicos, ATP, fosfolípidos) y en reacciones de transferencia de energía [2].

Existe una gran variedad de microorganismos en el suelo asociados al proceso de solubilización de fósforo. La comunidad microbiana es el componente funcional más importante de la biota del suelo, ya que juega un papel importante en el flujo de energía, la transformación de nutrientes y el ciclaje de elementos en el ambiente [3]. Los microorganismos pueden relacionarse entre sí, dando lugar, en muchos casos a interacciones sinérgicas que favorecen el crecimiento de la planta [4], estas interrelaciones entre microorganismos inciden en la interacción suelo-planta-microorganismos-ambiente y repercuten, de forma directa, en el crecimiento y en el desarrollo de las especies vegetales [5]. Los microorganismos solubilizadores de fósforo constituyen hasta un 40% de la población de bacterias del suelo y una porción de ellos son aislados de la rizosfera. Además cabe mencionar que uno de los mecanismos más usados por las poblaciones microbianas para solubilizar el fósforo es a través de la producción de ácidos orgánicos, los cuales actúan sobre las formas insolubles [4].

Las interacciones microbianas (bacterias, levaduras y hongos) tienen la capacidad de ejercer un efecto de control biológico sobre diferentes patógenos de interés y se han empleado para controlar diversas enfermedades en frutos y vegetales [6].

Los objetivos de este trabajo fueron el aislamiento y caracterización de los microorganismos seleccionados, la realización de las cinéticas de

crecimiento microbiano, analizar la capacidad de ciertas bacterias de solubilizar el fósforo por un método colorimétrico, así como observar la capacidad de solubilización de fósforo realizando interacciones entre bacteria-bacteria, hongo-hongo y hongo-bacteria.

MATERIALES Y MÉTODOS

La totalidad de los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Bioquímica y Microbiología del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI) ubicado en la ciudad de Irapuato, Guanajuato.

Para analizar la cantidad de fósforo solubilizado se utilizó el método del ácido ascórbico, el cual es un método netamente colorimétrico, en el espectrofotómetro carry 50, a una longitud de onda de 424 nm.

La cinética del crecimiento bacteriano se realizó por el método de absorbancia de luz en espectrofotómetro carry 50, éstos se realizaron cada hora en un periodo de 24 horas. Para la cinética de crecimiento en hongos se realizó por la técnica de peso, el cual consiste en la filtración del cultivo a través de una membrana que retenga las células y su posterior desecación hasta peso constante.

Las fermentaciones de los microorganismos se realizaron en condiciones rotatorias (150 rpm y 30°C de temperatura, durante 48 horas), en el medio N-Brip adicionada con fosfato de calcio tribásico como fuente de fosforo insoluble.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las curvas de calibración realizadas para la cuantificación de fósforo solubilizado, se obtuvieron regresiones de 0.97, 0.99 y 0.99 respectivamente y se observaron las concentraciones de los medios inoculados con tiempos de 3, 6 y 9 días las cuales se muestran en la Tabla 1.

En relación con las confrontaciones, estas primero se realizaron en Placas Petri para observar si en alguna existía inhibición, de las cuales resultaron 9 confrontaciones exitosas, entre hongos y bacterias. En las curvas de calibración realizadas se obtuvieron regresiones de 0.97, 0.99 y 0.97 respectivamente y se observaron concentraciones que se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1. Concentración de los microorganismos a los 3, 6 y 9 días

Concentración (ppm)	B 2	B 3	B 4	H1	H2	H3
Con. 3 días	2.45	2.70	3.07	3.26	4.10	3.17
Con. 6 días	4.87	3.98	4.33	6.11	4.99	4.91
Con. 9 días	6.16	5.93	5.33	8.81	7.12	6.85

Tabla 2. Concentración de las confrontaciones a los 3, 6 y 9 días

Concentración (ppm)	B2-B3	B2-B4	B4-B3	H3-B2	H1-B2	H1-B4	H2-B2	H2-H3	H2-B4
Con. 3 días	3.23	3.16	3.06	6.78	8.71	7.73	6.72	7.13	7.19
Con. 6 días	7.70	8.18	3.50	9.24	8.54	10.24	7.77	8.79	8.47
Con. 9 días	9.44	*4.07	9.38	12.41	9.15	11.50	*3.56	10.35	8.67

*Observamos que las confrontaciones B2-B4 y H2-B2 a los 9 días de incubación reduce drásticamente la solubilización.

Se puede observar que con todas las cepas es posible solubilizar el fósforo para volverlo más disponible para plantas, siendo la confrontación H3-B2 y por separado el denominado H1, los que muestran mayor solubilidad del fósforo, pero aun así todas solubilizan este elemento en una capacidad considerable.

De las cepas que fueron aisladas y caracterizadas suponemos son pertenecientes a *Pseudomonas* spp, *Arizona* spp y *Proteus* spp. En la Figura 1 se muestra el cambio de coloración con respecto al control el cual se debe al cambio de pH del medio

por medio del microorganismo (*Pseudomonas* spp).

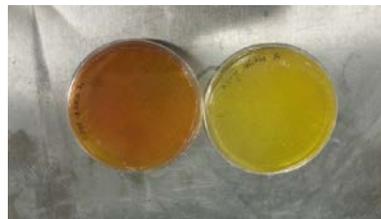


Fig. 1.- Cambio de coloración del medio en comparación con el control por el cambio de pH.

Según los valores obtenidos en las cinéticas bacterianas se puede considerar que cerca de la hora 17 comienza la fase de muerte como se muestran en la Figura 2, 3 y 4.

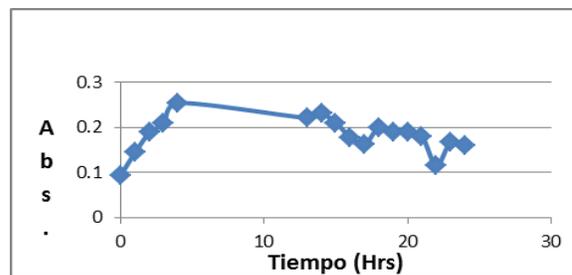


Fig. 2.- Cinética de la bacteria *Arizona* spp (B2)

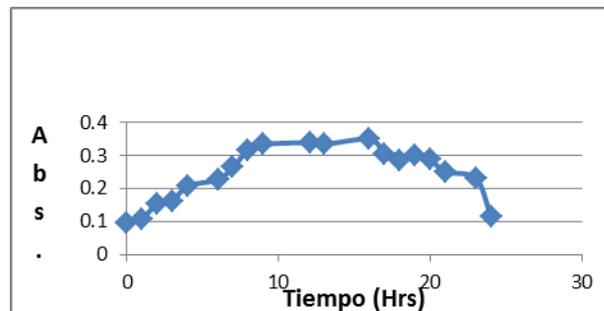


Fig. 3.- Cinética de la bacteria *Proteus* spp (B3)

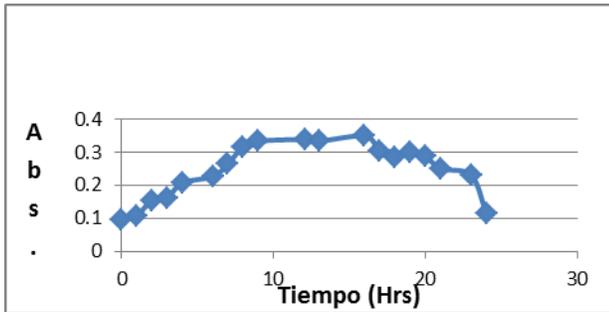


Fig. 4.-Cinética de la bacteria Pseudomonas spp (B4)

Las cinéticas para hongo fueron realizadas en un medio con una fuente de fósforo insoluble por un periodo de 7 días. Cabe mencionar que dos hongos (H1 y H3) muestran tener de nuevo etapa exponencial después de cierto tiempo de incubación como se muestra en la Figura 5, 6 y 7.

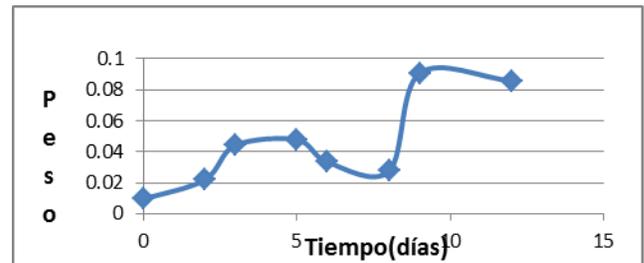


Fig. 7.- Cinética hongo 3 (H3)

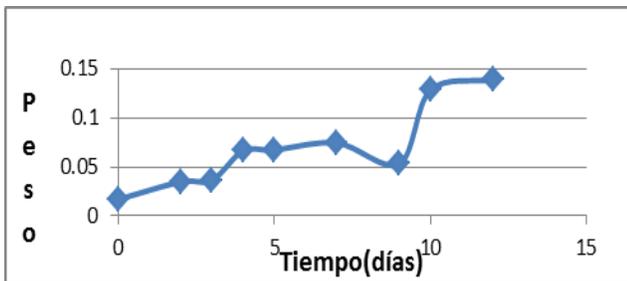


Fig. 5.-Cinética hongo 1 (H1)

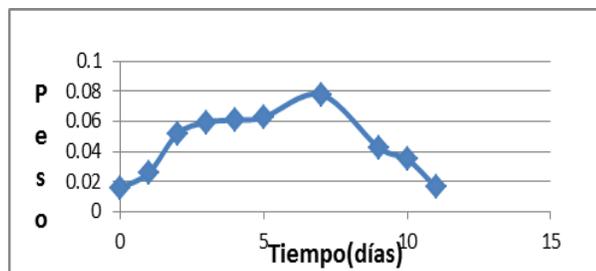


Fig. 6.-Cinética hongo 2 (H2)

CONCLUSIONES

Se comprobó que las cepas utilizadas en esta investigación son buenos solubilizadores de fósforo aunque las cepas bacterianas solubilizan una mayor cantidad de este elemento cuando se encuentran interaccionando con un hongo solubilizador de fósforo.

El conocimiento de estas bacterias aisladas de un área natural protegida representa un potencial en la mejora de zonas con escasas forestal.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato por permitirme realizar este proyecto en sus instalaciones y sobre todo a mi asesora que me dio consejos para poder terminar este proyecto para futuras investigaciones.

REFERENCIAS

- [1] Morales Torres Claudio. (2012). "Aislamiento y caracterización de fosfobacterias". (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma de Querétaro, México, [pp. 2-8].
- [2] Huilcapi Salazar Jenniffer Verónica. (2007). "Aislamiento e identificación de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de muestras de suelo y raíz de diferentes cultivos de rosas de la provincia de Pichincha". (Tesis para licenciatura). Escuela Politécnica del Ejército, Ecuador, [pp. 6- 26].
- [3] Moratto C., Martínez J., Valencia H., Sánchez J. (2005). "Efecto del uso del suelo sobre hongos solubilizadores de fosfato y bacterias diazotróficas en el páramo de Guerrero (Cundinamarca)", en Agronomía colombiana, 23(2), [pp. 299-309].

- [4] Fernández María Teresa. (2005). "El papel de la solubilización del fósforo en los biofertilizantes microbianos", en ICIDCA, 31 (39), [pp. 27-34].
- [5] Cano Mario Alejandro. (2011). "Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma spp.* y *Pseudomonas spp.*", en U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica, 12(2), [pp. 15-31].
- [6] Beltrán Pineda Mayra Eleonora. (2014). "La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal", en Corpoica ciencia tecnológica agropecuaria, 15(1), [pp. 101-113].